

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Michaela Migašová

STANOVENÍ VYBRANÝCH STOPOVÝCH PRVKŮ
V KOSMETICKÝCH VÝROBCÍCH POMOCÍ SOLID
SAMPLING GF-AAS

Determination of selected trace elements in cosmetic products
using solid sampling GF-AAS

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Dr. Inga Petry-Podgórska

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část, nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 28. srpna 2017

.....

podpis

Poděkování

Chtěla bych nejvíce poděkovat mé školitelce Dr. Inze Petry-Podgórske za neskutečnou trpělivost a čas, který mi během měření věnovala a za její cenné rady, které mi poskytla. Dále bych chtěla poděkovat panu RNDr. Jakubovi Hraníčkoví, Ph.D. a RNDr. Stanislavu Musilovi, Ph.D. za pomoc při komplikacích s přístrojem. Poděkování také patří mým rodičům za možnost studia na vysoké škole.

Abstrakt

Anorganická barviva jsou využívána při výrobě barevných laků na nehty. Pigmenty jsou nejčastěji složeny ze sloučenin přechodných kovů. Úkolem této bakalářské práce byla optimalizace podmínek pro stanovení olova ve vybraných dětských lacích na nehty pomocí atomové absorpční spektrometrie s dávkováním pevného vzorku (ang. solid sampling GF-AAS). Po nalezení optimálních podmínek pyrolýzy a atomizace pro olovo v dětských lacích na nehty, byla provedena kvantifikace. Grafitové lodičky používané pro dávkování a měření vzorku byly využity vícekrát. Během analýzy laků na nehty lodičky korodují, a z toho důvodu byla vyvinuta metoda pro čištění a zachování povrchu lodiček.

Klíčová slova

Atomová absorpční spektrometrie, dávkování pevného vzorku, olovo, lak na nehty

Abstract

Inorganic dyes are used in the production of colored nail polishes. Pigments very often include compounds containing transition metal. The aim of this bachelor thesis was to optimize conditions for the determination of lead in selected nail polishes for children by solid sampling atomic absorption spectrometry (SS-AAS). Having found the optimal pyrolysis and atomization conditions for analysis of lead in children nail polish, a quantification of the element was carried out. Graphite platforms for dosing and sample measurement have been reused several times. During the nail polish analysis, the graphite platforms are corroding, so a method for cleaning and preserving the surface of the platforms has been developed.

Keywords

Atomic absorption spectrometry, solid sampling, lead, nail polish

Obsah

1	Seznam zkratk	7
2	Úvod	8
2.1	Cíle práce	8
3	Teoretická část	9
3.1	Kosmetika	9
3.1.1	Anorganické pigmenty v kosmetice	9
3.1.2	Olovo v kosmetických přípravcích	10
3.1.3	Laky na nehty	11
3.2	Metody používané ke stanovení těžkých kovů v kosmetice	12
3.2.1	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem	13
3.2.2	Atomová absorpční spektrometrie	14
3.2.3	Metody atomizace	15
4	Experimentální část	19
4.1	Chemikálie	19
4.2	Příprava vzorků a roztoků	19
4.3	Přístroje	21
4.4	Statistické zpracování výsledků	22
5	Výsledková část a diskuze	24
5.1	Kontrola přítomnosti olova	24
5.2	Příprava grafitových lodiček	24
5.2.1	Zbytkové množství olova na grafitových lodičkách	26
5.3	Optimalizace parametrů	26
5.3.1	Optimalizace pyrolýzy	27
5.3.2	Optimalizace atomizace	28
5.4	Kalibrační závislost	32
5.5	Analýza vybraných vzorků	34
5.6	Mez detekce, Mez stanovitelnosti	35
6	Závěr	36
7	Použitá literatura	37

1 Seznam zkratek

AS	atomová spektrometrie
AAS	atomová absorpční spektrometrie
GF	grafitová kyveta (ang. graphite furnace)
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ang. inductively coupled plasma mass spectrometry)
ETA-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ang. electrothermal atomic absorption spectrometry)
F-AAS	atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací (ang. flame atomic absorption spectrometry)
HR-CS-AAS	atomová absorpční spektrometrie s kontinuálním zdrojem a vysokým rozlišením (ang. High Resolution Continuum Source AAS)
US FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických (ang. U.S. Food and Drug Administration)
t_{atom}	teplota atomizace při optimalizaci podmínek pyrolýzy (°C)
t_{pyr}	teplota pyrolýzy při optimalizaci podmínek atomizace (°C)
$c_{\text{Pb}^{2+}}$	koncentrace olovnatých iontů (ppm)
SD	směrodatná odchylka (ang. Standard deviation)
RSD	relativní směrodatná odchylka (ang. Relative standard deviation)
LOD	mez detekce (ang. Limit of detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (ang. Limit of quantitation)

2 Úvod

Mezi nedílnou součástí našeho denního života patří kosmetika. Ženy ji od pradávna používají ke svému zkrášlení, a ve starověku byly pigmenty v kosmetice využívány k označení svého postavení ve společnosti. Kosmetika, kterou denně používáme (řasenka, lak na nehty, rtěnka), obsahuje stopové prvky s toxickou povahou jako např. olovo, arzen, měď a jiné. Tato práce se zaměřila na nalezení rychlého způsobu detekce stopových prvků v lacích na nehty, a nalézt ty prvky, které jsou dle evropských norem zakázány. V této práci jsem se také zaměřila na optimalizaci metody ke kvantifikaci vybraného prvku.

2.1 Cíle práce

- Optimalizace podmínek pro stanovení vybraných stopových prvků pomocí atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací s vyhřívanou kyvetou.
- Záchrana grafitových lodiček pomocí grafitového prášku a zlepšení signálu.
- Kvantifikace olova ve vybraných dětských lacích na nehty.

3 Teoretická část

3.1 Kosmetika

Kosmetika se stala součástí našeho každodenního života. V posledních letech se používání kosmetiky výrazně zvýšilo, a s tím také nastaly možné nežádoucí účinky spojené se složením kosmetiky, ve které se vyskytují toxické prvky. Slovo kosmetika bylo poprvé použito k popisu Římských otroků, jejichž prací bylo koupat muže a ženy v parfému. V Egyptě před 10 000 lety př.n.l používali muži a ženy vonné oleje a masti. Také si pomocí henny barvili vlasy, oči, nehty a rty. [1]

Dle *Evropského nařízení parlamentu (ES) č. 1223/2009 a rady ze dne 30. listopadu 2009 článek 2* se za kosmetický přípravek bere jakákoliv látka nebo směs, která je určena pro styk s vnějšími částmi těla (pokožka, vlasy, nehty, rty) nebo se zuby a sliznicemi ústní dutiny převážně za účelem čištění, parfemace, změny vzhledu, ochrany, a k udržení dobrého vzhledu. Každý kosmetický přípravek musí být opatřen zprávou, která shrnuje jeho bezpečnost. Tato zpráva musí obsahovat „Kvantitativní a kvalitativní složení kosmetického přípravku“, ve které jsou zahrnuty chemické identity látek, které se v přípravku vyskytují. Součástí zprávy je také povinnost informovat o nečistotách a stopovém množství o zakázaných látkách. Jestliže se stopová množství v kosmetickém prostředí vyskytují, je nezbytné, aby byl vydán doklad o technické nevyhnutelnosti jejich výskytu. Byl vydán seznam zakázaných látek v kosmetických přípravcích, který obsahuje celkem 1328 látek, jež se v kosmetice nesmí vyskytovat. [2]

3.1.1 Anorganické pigmenty v kosmetice

Pigment pochází z latinského „pigmentum“, který původně označoval barvu ve smyslu barvení, později se ale rozšířil tak, že je využíván k popisu barevných dekorací. Přirozené anorganické pigmenty jsou známy již od pravěku.

Průmysl s pigmenty začal v 18. století s produkty berlínské modři (1704), kobaltová modř (1777) a chromově žlutá (1778). V 20. století se pigmenty více stávaly vědeckým předmětem. V několika posledních desetiletích se na trh dostávají syntetické pigmenty kadmia, dále manganová modř, molybdenová červená a směsné oxidy bismutu.

Novým bílým syntetickým pigmentem byl označen oxid titaničitý, který zastoupil toxickou olovnatou bělobu. [3][4]

V kosmetice je využíváno jak organických, tak anorganických pigmentů. Anorganické pigmenty jsou nejčastěji složeny ze sloučenin přechodných kovů. Barva je výsledkem přítomnosti vnějších elektronů, které mohou pohlcovat viditelné světlo a podporovat vyšší energetickou úroveň. Nejčastěji používanými anorganickými pigmenty jsou oxidy železa. Oxid železa je k dispozici v různých barvách a to černý oxid železa, žlutý oxid železa, hnědý oxid železa a jiné. Zelený pigment poskytují oxidy chromu, ultramaríny modré a fialové zabarvení. Odstín barvy závisí také na pH, koncentraci, teplotě a jiné. Oxidy železa nemají žádné vedlejší účinky, tudíž je bezpečné je používat. [5] Anorganické pigmenty jsou obecně více neprůhledné a odolné vůči rozpouštědlům. [4]

3.1.2 Olovo v kosmetických přípravcích

Olovo patří mezi jedny z nejstarších kovů na světě, kdy prvotní zmínka byla již v knihách Starého zákona. Již ve starém Egyptě využívali tento prvek pro glazování keramiky a pro přípravu černých, zelených a bílých kosmetických přípravků. [6] Olovo také ve starém Řecku a Římě využívali gladiátoři, kteří si jím pokrývali klouby prstů. [7] Určitě je to jeden s nejrozšířenějších těžkých kovů na Zemi. Tři přirozené izotopy olova (^{206}Pb , ^{207}Pb , ^{208}Pb) vznikají jako stabilní produkty přirozených rozpadových řad. Nejčastěji se tento prvek v přírodě vyskytuje jako těžký černý minerál galenit (sulfid olovnatý - PbS). [8]

Olovo patří mezi vysoce toxické kovy. Může se vyskytovat jak v anorganické, tak organické formě, avšak organická forma olova je pro lidské tělo výrazně toxičtější, jelikož jej tělo rychleji absorbuje. [9] Anorganická forma olova se vyskytuje především ve starých barvách a v půdě. Barva anorganického olova se mění v závislosti na chemické formě. Mezi organické formy olova řadíme tetra-ethyl olovo, který je přítomen v olovnatém benzínu, kdy je poté uvolňován do atmosféry a zvyšuje se riziko intoxikace. [10]

Do roku 2007 byl malý zájem o studium stopových prvků v kosmetice. Díky zprávám o přítomnosti olova v rtěnkách [11] ve Spojených státech amerických vzrůstá zájem o tuto problematiku. Doteď byla publikována přítomnost olova v kosmetických přípravcích v rtěnkách [12], [13], [14], [15], [16], v očních stínech [17], [14], v lacích na nehty [16], [18] a plet'ových krémech [14], [16]. Doposud nebyly nalezeny žádné vědecké publikace o přítomnosti stopových prvků v kosmetice prodávané v České republice, a také žádné zmínky otravy olovem u dětí nebo dospělých. Olovo se také může vyskytovat v dětské dekorativní kosmetice, které jsou stále více populární během dětských oslav, a to v lacích na nehty. Potencionálním zdrojem otravy tímto prvkem u dětí jsou dětské hračky, kdy hračka může být natřena barvou, která olovo obsahuje. Barva s olovem se může do těla dítěte dostat například přes ústa, kdy si děti hračky, nebo prsty nalakované lakem vkládají do úst. První dětské úmrtí otravou olova bylo zaznamenáno v roce 2003 ve Spojených státech. [10] Olovo při otravě napadá především mozek a centrální nervový systém, kdy může dojít ke křečím, kóma a následně k smrti. Děti, které přežijí akutní otravu olovem, poté trpí mentální retardací. Otrava olovem také způsobuje ztrátu paměti, dyslexii, poruchu pozornosti, poškozuje imunotoxicitu a toxicitu reprodukčních orgánů.

3.1.3 Laky na nehty

Laky na nehty pochází z Číny z roku 3000 př.n.l a byly během dynastie Ming vyráběny ze směsi, která obsahovala včelí vosk, želatinu, vejce, zeleninová barviva a arabskou gumu. V Egyptě mumifikovaní faraoni, jenž se řadili do vyšší vrstvy, měli své nehty malovány červenohnědou hennou. Spodní třída společnosti používala na nehty bledé odstíny. Na přelomu 19. století byly nehty broušeny a zabarvovány červenými oleji. V 19. století a na počátku 20. století byly upřednostňovány nehty vyleštěné díky barveným práškům a gelům, které poté na nehtech leštili. [19]

Obecně lak na nehty je vyráběn v kombinaci nitrocelulózy a plastifikátorů (ricinový olej, směs glycerolu, mastných kyselin a octových kyselin) [20] s barevnými pigmenty. Rozpouštědla vyskytující se v lacích na nehty plní funkci míchání složek v laku, aby se vytvořil jednotný produkt.

Během nanášení laku na nehty nitrocelulóza tvoří lesklou folii na nehtu a rozpouštědla se odpařují. [21] Toxické látky se mohou v kosmetice vyskytovat neúmyslně, kdy jsou přítomny v důsledku výrobního procesu. Záměrné používání chemických látek (např. As, Sb, Cd, Ni, Pb) je v mnoha zemích zakázáno a jsou považovány za nebezpečné kvůli jejich toxické povahy. [18]

Volby pigmentu do laku na nehty jsou ovšem omezeny ve Spojených státech federálním úřadem pro kontrolu potravin a léčiv, podle kterého jsou pigmenty zařazeny na seznam, které se používat smí, a které jsou zakázány. [20] Dle norem Evropské unie jsou přesně stanoveny povolené koncentrace olova v hračkách podle jejich složení. Limitní hodnota koncentrace v hračkách je stanovena na $3,4 \text{ mg kg}^{-1}$.

Dle nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích, je na seznamu zakázaných látek v kosmetice olovo a jeho sloučeniny na 289. místě. [2]

Podle zákona č. 86/2011- *Nařízení vlády o technických požadavcích na hračky (Česká republika)*, pokud lak na nehty spadá do kategorie hraček s tekutým materiálem, je nejvýše přípustná koncentrace olova $3,4 \text{ mg kg}^{-1}$. [22]

Americká kontrola FDA stanovila nejvyšší možnou přípustnou koncentraci olova v lacích na nehty $20 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, povolená koncentrace olova v Kanadě je o polovinu menší než v USA, tedy $10 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, kdy tuto hodnotu označuje jako bezpečnou jak pro dospělé, tak pro děti. [18]

3.2 Metody používané ke stanovení těžkých kovů v kosmetice

Matrix kosmetiky není jednoduchá a obvykle vyžaduje časově náročnou přípravu vzorků. Analytické metody pro stanovení kovů v kosmetice jsou doporučovány různými právními předpisy. Mezi metody ke stanovení těžkých kovů patří např. atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETA) [23], plamenová atomová absorpční spektrometrie (F-AAS) [23], [24], optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) [12], [23], metoda studených par (CV-AAS) [23] a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). [23]

3.2.1 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Metoda ICP-MS je spojení indukčně vázané plazmy s hmotnostní spektrometrií. Indukčně vázaná plazma zde hraje roli budícího zdroje, který je zdrojem iontů pro hmotnostní spektrometr. Hmotnostní spektrometr separuje a detekuje ionty na základě jejich hmotnosti. [25] Díky metody ICP-MS jsme schopni detekovat výskyt těžkých kovů ve vzorcích i při velmi nízké koncentraci (až ppq). [26] Vzorky jsou do indukčně vázaného plazmatu vedeny ve formě aerosolu, který vzniká průchodem kapalného vzorku přes zmlžovač. Při této metodě je složitější příprava vzorku laku na nehty k analýze, jelikož musí být odvážen, a poté degradován, nebo zneutralizován na čirý roztok pomocí koncentrované kyseliny dusičné, kyseliny fluorovodíkové a přidavku peroxidu vodíku.

Pro přenesení vzorku do plazmatu musí být vzorek homogenní. ICP-MS je metoda vhodná pro stanovení nízkých koncentrací analytu, což umožňuje stanovení toxických a potencionálně toxických složek v kosmetice. Díky složitější korekce interferencí umožní dosáhnout nižšího limitu detekce. [16]

Metodou ICP-MS můžeme stanovovat oproti atomové absorpční spektrometrii, která může stanovit pouze jeden prvek, více prvků najednou. Mezi nevýhody ICP-MS patří vysoká instrumentální náročnost spojená s vysokými náklady a přípravou vzorku.

Zatím pouze Grosser a Lemaire využili ICP-MS pro měření olova a jiných kovů v kosmetice. [16], [15] Grosser se ve svém výzkumu zabýval také měřením laků na nehty a zjistil, že olovo se ve vzorcích vyskytuje v intervalu od 0,204 – 6,03 ppm. [16]

Lemaire měřil obsah pouze olova v rtěnkách metodou ICP-MS a ETA s dávkováním pevných vzorků. Výsledky obou metod byly porovnány a hodnoty byly přibližné. Rozsah olova v rtěnkách byl v intervalu od 0,54-1,16 ppm. [15]

3.2.2 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie je jedna z nejpoužívanějších analytických metod. Díky této metodě je možné stanovit více než 60 prvků, a to především kovových prvků a metaloidů.

Principem této metody je absorpce záření volnými atomy v plynném stavu vznikající v atomizátorech. Volné atomy absorbují fotony o určité energii, popřípadě záření o určité vlnové délce.

Pro určitý druh atomů je charakteristická energetická hodnota fotonů, kdežto počet absorbovaných fotonů je mírou množství stanovovaných atomů. Závislost intenzity toku záření a toku záření zmenšeného absorpcí atomů platí Lambertův-Beerův zákon. [24]

$$\Phi = \Phi_0 \cdot \exp(-\kappa \cdot N \cdot l) \quad (3.1)$$

Kde Φ vyjadřuje intenzitu záření po průchodu absorbujícím prostředím, Φ_0 je intenzita záření zdroje, κ je atomový absorpční koeficient, l délka absorpční vrstvy a N počet atomů.

$$A = \log \Phi_0 / \Phi \quad (3.2)$$

Kde A je absorbance, Φ vyjadřuje intenzitu záření po průchodu absorbujícím prostředím, a Φ_0 intenzitu záření zdroje.

Lambertův-Beerův zákon vyjadřuje vztah lineární mezi absorbancí a koncentrací, ale za určitých podmínek může být také nelineární. Tato odchylka od znění zákona může být rozdělena do tří skupin, a to skutečná odchylka, která vyjadřuje omezení, kdy se analyt začne chovat jinak v důsledku interakce s rozpouštědlem a jinými molekulami, chemická odchylka vyskytující se v důsledku chemického jevu, kdy dojde ke vzniku produktu s různými absorpčními charakteristikami a odchylka nástroje, která objasňuje odchylky během měření absorbancí. [27] Díky této metodě je možné stanovit více než 60 prvků a to především kovových prvků a metaloidů.

Přístroj pro atomovou absorpční spektrometrii je složen ze 4 základních částí: zdroj primárního záření, atomizátor, monochromátor a detekční systém. Mezi zdroje záření patří výbojky s dutou katodou, které vyzařují čárové spektrum.

Výbojky jsou zhotoveny z optického skla se zatavenými elektrodami. Jako další zdroj záření jsou používány také bezelektrodové výbojky, které emitují velmi úzké čáry, jejichž intenzita je o několik řádů vyšší než u výbojek s dutou katodou. Každá lampa je navržena tak, aby analyzovala jeden prvek. ContrAA600 a ContrAA700 (Analytik Jena AG, Německo) využívají xenonovou lampu s krátkým obloukem. Je to zdroj kontinuálního záření s optimální intenzitou v celém rozsahu vlnových délek relevantních pro AAS. Díky tomuto přístroji dokáže měřit všechny prvky a všechny dostupné vlnové délky. Vyhodnocení molekulárně absorpčních pásem, umožňující analýzu dalších prvků, je další inovací. [28]

Přeměna stanovovaného prvku na atomovou páru probíhá v atomizátoru. Funkcí množství analytu v dávkovaném vzorku je počet jeho atomů v atomizátoru. [29]

Využití atomové AAS je především v prvkové analýze, kdy mohou být stanoveny prvky v koncentracích od desetin $\mu\text{g l}^{-1}$ až po desetiny g l^{-1} . Pro vyšší koncentrace se používá plamenová AAS. [29]

3.2.3 Metody atomizace

Existuje několik metod, podle kterých dochází k atomizaci analyzovaného vzorku. Mezi ty nejběžnější patří elektrotermická atomizace (ETA), atomizace plamenem (F-AAS), atomizace v křemenné trubici a metoda při použití grafitové kyvety (GF-AAS).

Principem metody plamenové atomizace je zavedení vzorku do plamene ve formě aerosolu pomocí zmlžovače a mlžné komory. Plamen by měl být průzračný při 190-850 nm, mít vlastní slabé záření a mít co největší účinnost atomizace a nízký stupeň ionizace. Mezi důležité parametry při měření koncentrace atomů v plameni patří především výška hořáku, ve které prochází záření. V F-AAS je nejčastěji používán plamen acetylen-vzduch, díky kterému lze stanovit více jak 30 prvků. [29], [23], [24]

Při metodě ETA dochází k absorpci primárního záření vzorkem v atomizátoru. Elektrotermický atomizátor je zařízení, které je vyhříváno na potřebnou teplotu

průchodem elektrického proudu. Materiály elektrotermických atomizátorů by měly mít dobrou tepelnou a elektrickou vodivost, malou tepelnou roztažnost, vysokou teplotu tání a být chemicky odolné. [29]

Systém ETA je schopen převést stanovené prvky z roztoku vzorku do plynného atomárního stavu. Při ETA je dávkováno velmi malé množství vzorku do odporově vyhřívané kyvety. Postupným ohřevem kyvety dochází k postupné atomizaci vzorku průchodem elektrického proudu. Elektrotermický ohřev kyvety probíhá v atmosféře za přítomnosti velmi čistého argonu, aby bylo zabráněno přístupu kyslíku. [30]

Atomizace v křemenné trubici se využívá při hydridové technice, kdy je analyt ze vzorku převedený na těkavý hydrid, a ten je poté atomizován v plynné fázi. Mezi prvky, které mohou být převedeny na těkavý hydrid, patří arsen, bismut, germanium, olovo, antimon, selen, cín, telur, indium a thalium. [29]

3.2.3.1 Grafitová kyveta

Grafitová kyveta obr.3.1 je vhodná pro přímou analýzu pevných a tekutých vzorků, jelikož je schopna se přizpůsobit jak miligramovým hmotnostem vzorku, tak i poměrně větším vzorkům a zároveň díky delší době zdržení odpařeného vzorku v absorpčním objemu umožňuje účinnou atomizaci také žáruvzdorných sloučenin.



Obr.3.1- Grafitová kyveta použita pro contrAA 600 a contrAA 700
(AnalytikJena AG, Německo)

Zavedení vzorku do grafitové kyvety je možné jak manuálně, tak pomocí automatického autosampleru. [28]

V současné době se používá grafitová kyveta, která má na povrchu vrstvu pyrolytického grafitu s vysokou mechanickou a termickou stabilitou.

Materiál kyvety je chráněn před shořením v atmosférickém kyslíku proudem argonu, který ji obtéká zvenčí i uvnitř a odstraňuje tak současně z vnitřního prostoru zbytky po pyrolýze matrice. [31]

Dávkování tekutých vzorků je možno buď přímo do kyvety, nebo do lodičky umístěné v kyvetě. V případě dávkování pevných vzorků jsou dávkovány na lodičky s vrstvou pyrolytického grafitu (30 µm podle Analytik Jena AG, Německo).

Přímá analýza pevných vzorků pomocí GF-AAS existuje již po několik let a přináší nám mnoho výhod. Při dávkování pevného vzorku se snižuje riziko kontaminace a ztráty vzorku. Vzorek nemusí být již nijak upravován (př. ředění, rozpouštění nebo degradace do kapalného stavu) a metoda vykazuje velmi dobrou citlivost. [15] Metoda GF-AAS solid sampling je charakterizována základními rozdíly ve srovnání s plamenovou spektrometrií. Jedním z rozdílu je čas potřebný pro pyrolýzu a atomizaci vzorku na lodičce v kyvetě, který je delší, díky němuž žáruvzdorné sloučeniny mají dostatek času k rozkladu, a atomizace v kyvetě probíhá ve vysoce redukujícím médiu. [32]

Přesnost a správnost výsledků přímé analýzy souvisí s vážením, transportem vzorku, homogenizací atd. Často je dosaženo srovnatelných přesností, jako při analýze roztoků. [33], [15]

Při analýze kapalných vzorků je výhodou oddělení možných doprovodných látek v průběhu stanovení. V případě komplikovaných matrix vzorku které obsahují nerozpustný oxid titaničitý, jsou potřebné vyšší nároky na degradaci vzorku s použitím kyseliny fluorovodíkové, která je velmi silná a toxická. Při analýze s dávkováním pevných vzorků oxid titaničitý koroduje povrch grafitové lodičky, čímž zmenší životnost použití lodičky a je nutné vytvořit metodu pro čištění. [34]

Při sušení dochází k odpaření všech těkavých látek a rozpouštědel. Teploty jsou v rozsahu od 80 – 150 °C.

Pyrolýza je termická úprava vzorku. Při pyrolýze dochází k přeměně formy analytu a matrice vzorku, kdy nejlepším předpokladem této úpravy je odstranění matrice. Při odstranění matrice nesmí dojít ke ztrátě analytu.

Maximální teplotu pyrolýzy určíme na základě sestrojené rozkladné křivky, která je výsledkem opakovaných měření stejného vzorku při konstantní teplotě atomizace, ale se změnou teploty pyrolýzy.

Při fázi atomizace dochází k zaznamenání analytického signálu. Optimální teplotu atomizace určujeme z atomizační křivky, která je sestrojena pro konstantní teplotu pyrolýzy. [29]

Dobu atomizace volíme tak, aby nedošlo ke změnám ploch signálu. Jako další důležité parametry při volbě teploty atomizace je rychlost nárůstu teploty (ramp) a průtok plynu. [29]

Optimální teplota pyrolýzy a atomizace se volí tak, aby byl absorpční signál symetrický a absorbance co nejvyšší. Pokles absorbance je následkem ztráty analytu při pyrolýze. Jednotlivé fáze pyrolýzy mohou být rozděleny do několika kroků. [26]

Při analýze s vyhřívanou kyvetou se k některým prvkům přidávají chemické modifikátory. Jsou to činidla, která po přidání do vzorku snižují, ruší, nebo izolují analyt v dané formě, a která umožní separaci mezi pozadím a atomovým absorpčním signálem analytu. [22] Nejčastěji přidávanými modifikátory pro měření olova jsou dusičnan paladnatý a dusičnan hořečnatý. [35], [36], [37]

4 Experimentální část

4.1 Chemikálie

- 65% HNO_3 čistoty p.a. (Sigma-Aldrich, Německo)
- Deionizovaná voda (Watrex, USA)
- 1000 ppm Pb^{2+} (BDH chemicals Ltd, Poole England)
- 1 mg . ml⁻¹ Mg^{2+} (BDH laboratory Ltd, Poole England)
- 10 g. l⁻¹ Pd^{2+} (Merck, Germany)
- Grafitový prášek (CHROMSPEC spol s.r.o., ref.číslo 407-A81.320)
- 100% Acetonitril (Lach-Ner, s.r.o., Czech Republic)
- Transparentní lak (Rimmel, London)
- Dětské laky na nehty (FabLab, Interpay UK Ltd., vyrobeno v Číně)
- Grafitová kyveta pokryta uhlíkem o vysoké čistotě (Analytik Jena AG, Německo, distributor ChromSpec)
- Grafitové lodičky pokryty vrstvou uhlíkem o vysoké čistotě (Analytik Jena AG, Německo, distributor ChromSpec)

4.2 Příprava vzorků a roztoků

Příprava 1% kyseliny dusičné

K přípravě roztoku bylo použito 1 % kyseliny dusičné, která byla ředěna z 65% kyseliny dusičné s deionizovanou vodou.

Příprava modifikátorů

Jako modifikátory byly použity 0,1 % dusičnan paladnatý a 0,1% hořečnaté ionty. Dávkované objemy modifikátorů byly 5 μl 0,1% (5 μg) dusičnanu paladnatého a 3 μl 0,1% (3 μg) hořečnatých iontů.

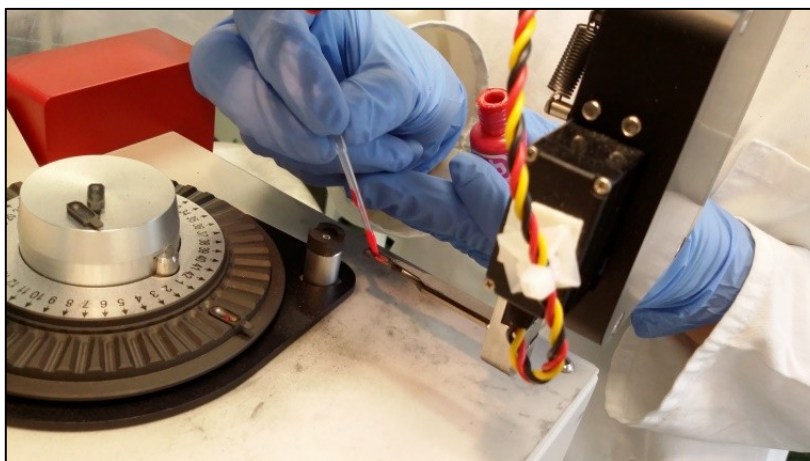
Příprava kalibračních roztoků olovnatých iontů

Pro optimalizaci podmínek pyrolýzy a atomizace byly připraveny roztoky olovnatých iontů o koncentracích 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1 ppm. Roztoky byly ředěny ze standardu olovnatých iontů o koncentraci 1000 ppm s 1% kyselinou dusičnou.

Při optimalizaci bylo dávkováno 5 μ l roztoku olovnatých iontů o koncentraci 1 ppm s modifikátory 5 μ l 0,1% dusičnanu paladnatého, 3 μ l 0,1% hořečnatých iontů .

Příprava vzorků

Vzorky dětských laků byly dákovány pomoci umělohmotné špičky na grafitovou lodičku (viz.obr 4.1). Hmotnost dávkovaných vzorků byla v rozmezí 0,3 – 0,7 mg, a po nadávkování byl vzorek po dobu 1,5 minuty ponechán na zaschnutí. Na zaschnutý vzorek byly dákovány modifikátory o objemech 5 μ l 0,1% dusičnanu paladnatého, 3 μ l 0,1% hořečnatých iontů. Modifikátory byly dákovány tak, aby pokrývaly vzorek. Předúprava vzorku dětského laku nebyla nutná.



Obr.4.1- Dávkování pevného vzorku umělohmotnou špičkou

Příprava grafitových lodiček

Před analýzou byly grafitové lodičky vypáleny tak, aby byly zbaveny nečistot a zbytků olova, který byl na povrchu lodiček zachycen z předešlých měření a neovlivňoval další výsledky.

Na lodičku viz.obr. 5.2 byl dávkován roztok připravený z grafitového prášku o přibližné hmotnosti 70-80 mg, 100 μ l acetonitrilu a 100 μ l 1% kyseliny dusičné.

Tento roztok byl dávkován o objemu 13 µl na každou lodičku. Po nadávkování byly lodičky vypáleny metodou PREPARE (5s, 2450 °C).

Vypálený grafitový prášek byl odstraněn štětcem umytým v 1% kyselině dusičné, poté sušen v acetonitrilu a následné zbytky byly vyfoukány.

Po odstranění bylo na lodičky dávkováno 10 µl 1% kyseliny dusičné a opět vypáleny metodou PREPARE (5s, 900°C). Na vypálené lodičky byly v posledním kroku dávkovány modifikátory (5 µl 0,1% dusičnanu paladnatého, 3 µl 0,1% hořečnatých iontů) a dle metody viz.tab.4.1 byly zkontrolovány absorpční signály vyskytujícího se olova. Jestliže hodnoty absorpčních signálů byly příliš vysoké (>0,005 Abs), proces čištění byl celý zopakován.

Tab.4.1 : Metoda pro čištění lodiček v průběhu optimalizace pyrolýzy a atomizace

		Temp	Ramp	Hold	Time	Gas	
		[°C]	[°C /s]	[s]	[s]	Purge	Add.
1	Sušení	80	6	20	28,3	Max	Stop
2	Sušení	90	3	20	23,3	Max	Stop
3	Sušení	110	5	10	14,0	Max	Stop
4	Pyrolýza	350	50	5	9,8	Max	Stop
5	Pyrolýza	1000	300	10	11,8	Max	Stop
6	Přízpůsobení plynu	1000	0	5	5,0	Stop	Stop
7	Atomizace	2300	1500	4	4,8	Stop	Stop
8	Čištění	2450	500	4	4,7	Max	Stop

4.3 Přístroje

Při optimalizaci podmínek pro standard olova a vzorek vykonaných na ústavu analytické chemie v oddělení analýzy stopových prvků akademie věd v Praze byl použit atomový absorpční spektrometr značky ContrAA 600 (Analytik Jena AG, Německo) s elektrotermickou atomizací.

Kalibrace a analýza vzorků byla prováděna na atomovém absorpčním spektrometru ContrAA 700 (Analytik Jena AG, Německo) na ústavu chemie Univerzity Karlovy v Praze.

K atomizaci analytu docházelo ve vyhřívané grafitové kyvetě a k dávkování pevných a kapalných standardů a modifikátorů probíhalo manuálně na grafitovou lodičku. Pro zavedení lodiček do grafitové kyvety je využíváno automatického autosampleru (Analytik Jena AG, Německo). Vzorky byly automaticky váženy na integrované mikrováze. Proplachovacím a ochranným plynem byl použit argon s čistotou 99,998 % pro contrAA 600 i contrAA 700. Ačkoliv primární vlnová délka pro olovo je 217. 0005 nm, stanovení byla prováděna za absorpční linie 283,3060 nm, která je pouze 2,5 krát méně citlivá, ale je vhodnější pro hladinu olova ve vzorcích. Tato linie byla také použita i v jiných studiích. [36] Pro získání absorpčního signálu byla nastavena hodnota na 3 pixely.

4.4 Statistické zpracování výsledků

Každé měření v této bakalářské práci bylo provedeno třikrát. Pokud byla výrazně odlehlá hodnota, byla vyloučena a nahrazena hodnotou z dodatečného měření.

Aritmetický průměr \tilde{x} - byl vypočten dle následujícího vzorce:

$$\tilde{x} = \frac{1}{n} (x_1 + x_2 + \dots + x_n) = \sum_{i=1}^n x_i \quad (4.1)$$

Kde \tilde{x} je aritmetický průměr, n je počet měření a x_i je vyjádřením hodnoty i -tého měření.

Směrodatná odchylka s - byla vypočtena ze vzorce:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \tilde{x})^2}{n}} \quad (4.2)$$

Symbol s vyjadřuje směrodatnou odchylku, n vyjadřuje počet měření, x_i je hodnota i -tého měření a \tilde{x} je aritmetický průměr.

Mez detekce LOD – je nejmenší koncentrace analytu, jehož přítomnost danou metodou můžeme dokázat.

$$LOD = \frac{3 \cdot s (blank)}{k} \quad (4.3)$$

LOD odpovídá limitu detekce, symbol *s* značí směrodatnou odchylku z 10-ti naměřených hodnot blanku, ***k*** odpovídá směrnici kalibrační přímky.

Mez stanovitelnosti LOQ - vyjadřuje nejnižší koncentraci analytu ve vzorku, kterou lze stanovit s určitou spolehlivostí.

$$LOQ = \frac{10 \cdot s (blank)}{k} \quad (4.4)$$

LOQ odpovídá limitu detekce, symbol *s (blank)* značí směrodatnou odchylku z 10-ti naměřených hodnot blanku, ***k*** odpovídá směrnici kalibrační přímky.

5 Výsledková část a diskuze

5.1 Kontrola přítomnosti olova

Před samotnou optimalizací podmínek teplotního programu byla provedena kontrola přítomnosti olova ve vzorcích dětských laků na nehty. Jednotlivé laky byly přeměřeny dle původní metody nastavené v softwaru přístroje contrAA 600. Na základě pozitivní odpovědi výskytu olova v každém laku jak je popsáno v tabulce 5.1, byla provedena optimalizace podmínek atomizace a pyrolýzy a následná kvantifikace olova. Pouze transparentní lak na nehty vykazoval negativní odezvu, avšak byl přeměřen z důvodu bílého zabarvení oproti bezbarvému, jak by se předpokládalo.

Tab.5.1: Přítomnost olova ve vzorcích dětských laků na nehty

Vzorek dětského laku [barva]	Přítomnost olova ve vzorku [-; +]
Transparentní	-
Růžový	+
Červený	+
Oranžový	+
Černý	+
Modrý	+

+ : pozitivní odpověď přítomnosti olova

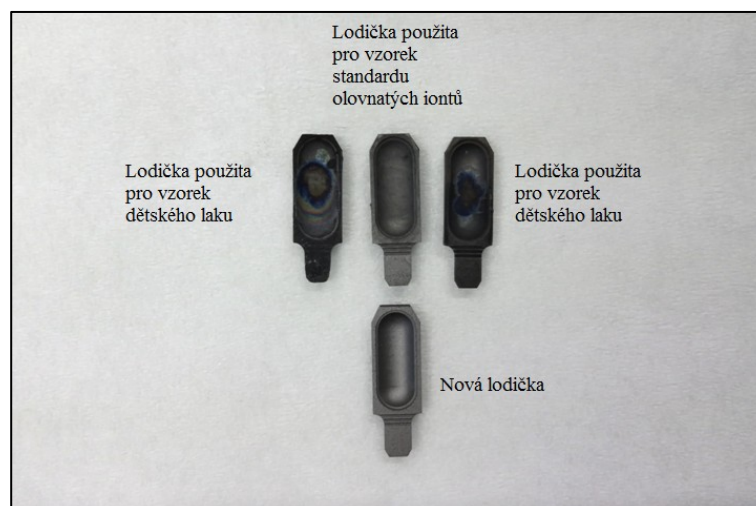
- : negativní odpověď přítomnosti olova

5.2 Příprava grafitových lodiček

Pro analýzu byly využity grafitové lodičky s pyrolytickou vrstvou grafitu, díky které dochází ke zlepšení citlivosti a reprodukovatelnosti výsledků. Během měření standardů a laků na nehty povrch lodičky požitý pro vzorek rychle korodoval (viz.obr.5.1). Jednou ze sloučenin vyskytujících se v lacích na nehty je oxid titaničitý, který za teploty atomizace nad 2000 °C se přeměňuje na kapalnou fázi $\text{TiO}_2\text{-TiC}$ [32] a pravděpodobně koroduje povrch lodičky (viz obr.5.1). Analýza korodovaných lodiček s dávkovanými modifikátory vykazovala přítomnost olova.

Opakovatelné vypalování korodované prázdné lodičky metodou PREPARE (5s, 2450 °C) neodstranilo zbytek olova a způsobilo další koroze a přepálení lodičky. Z toho důvodu bylo nutné vyvíjet metodu pro čištění a záchranu povrchu grafitových lodiček.

Po analýze každého vzorku byla lodička čištěna dle metody popsané v kapitole 4.2. Přídavkem grafitového prášku došlo k vyplnění úbytku povrchu lodičky, a také pravděpodobně došlo k zachycení zbytkového množství prvku na prášek, který byl poté manuálně odstraněn. Absorpční analýza lodičky po čištění s grafitovým práškem prokazovala účinnost metody.



Obr.5.1 - Povrch grafitových lodiček po použití standardu a vzorku



Obr.5.2 - Povrch lodiček s nadávkovaným roztokem grafitového prášku, acetonitrilu a 1% kyseliny dusičné

5.2.1 Zbytkové množství olova na grafitových lodičkách

Před každou analýzou byla lodička vyčištěna dle kapitoly 5.2. Po každé analýze standardu nebo vzorku bylo zbytkové množství olova. Hodnoty zbytkového olova vyskytujícího se na povrchu lodiček byl v rozmezí od 3-10 % z původního nadávkovaného množství vzorku. Na základě rozdílu zbývajících množství olova na lodičce byl důvod k rozhodnutí pro čištění lodiček. Po procesu vypálení lodiček byla obnova povrchu lodiček od původní hodnoty nadávkovaného vzorku v intervalu od 11 – 15 %.

5.3 Optimalizace parametrů

Bylo zkoumáno elektrochemické chování olova získáním příslušných pyrolyzačních a atomizačních křivek za přítomnosti modifikátoru. Ke stanovení olova ve vzorcích je vyžadováno kompromisu mezi teplotou atomizace a pyrolýzy. Chemické modifikátory mohou ovlivnit chování při odpařování a atomizace vzorku, tudíž jsou potřebné k udržení teplotní stability analytu a k odstranění matrix vzorku. Nejprve byly optimalizovány podmínky pyrolýzy, a to jak pro olovnaté ionty, tak pro vzorek dětského růžového laku na nehty, poté byla optimalizována teplota atomizace. Všechny optimalizace a měření probíhaly při vlnové délce 283,3060 nm.

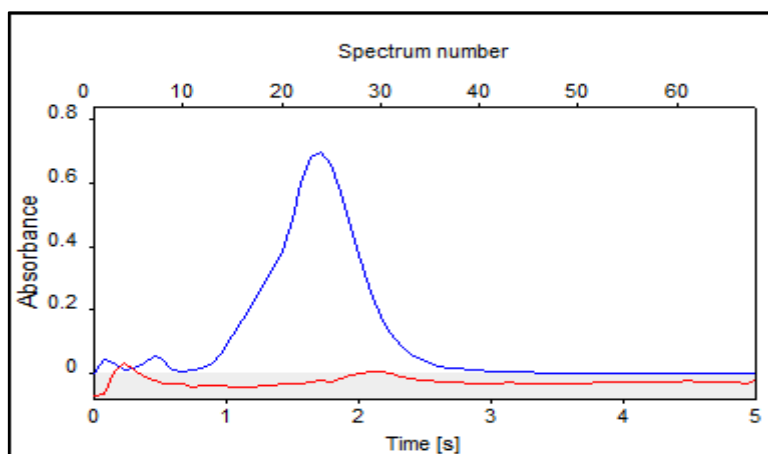
Vlnová délka byla zvolena dle předešlých studií. [15] Při optimalizaci byla také vyzkoušena vlnová délka pro olovo při 205,328 nm, ale při použití této hodnoty byly absorpční signály špatně čitelné a nebyly opakovatelné. Optimalizace byly vždy provedeny třikrát a do grafu byly uvedeny aritmetické průměry hodnot vypočteny dle kapitoly 4.5.

5.3.1 Optimalizace pyrolýzy

Optimalizace pyrolýzy olovnatých iontů

Optimalizace pyrolýzy byla prováděna za konstantní teploty atomizace při 2300 °C. Teploty pyrolýzy byly měřeny v rozmezí od 600 °C do 1500°C. Graf optimalizace je znázorněn na obrázku 5.3 .

Nižší teploty pyrolýzy vykazovaly vyšší absorpční odezvy, avšak při optimalizaci nebyly výsledky opakovatelné. Optimální teplota pyrolýzy byla zvolena při 900°C. Během optimalizace bylo zjištěno, že jsou nutné dvě pyrolýzy za sebou. Při odstranění 1. pyrolýzy nejsou výsledky reprodukovatelné a absorpční signál není dobře čitelný.



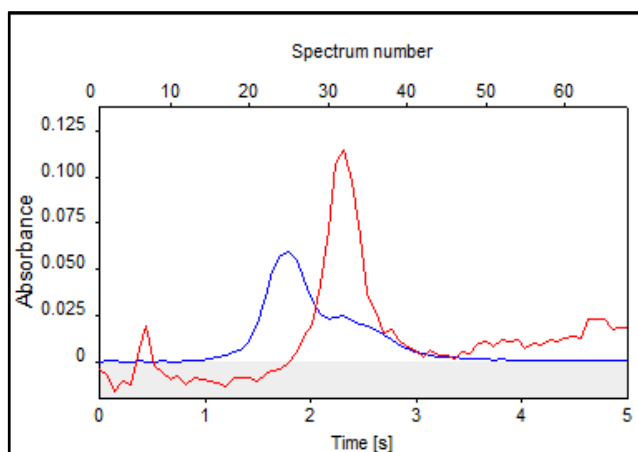
Obr.5.3 - Absorpční signál 5μ 1ppm olovnatých iontů

$$t_{\text{atom}} = 2300\text{ }^{\circ}\text{C}, t_{\text{pyr}} = 900\text{ }^{\circ}\text{C}$$

Optimalizace pyrolýzy vzorku dětského laku na nehty

Při optimalizaci pyrolýzy byla hodnota atomizační teploty nastavena na 2100 °C. Rozmezí teplot pyrolýzy byly od 600 °C – 1500 °C.

Optimální teplota pyrolýzy byla zvolena při 900 °C s ohledem na vzhled absorpčního signálu a opakovatelnosti výsledků. Graf optimalizace je znázorněn na obrázku 5.4.



Obr.5.4- Absorpční signál vzorku růžového dětského laku na nehty

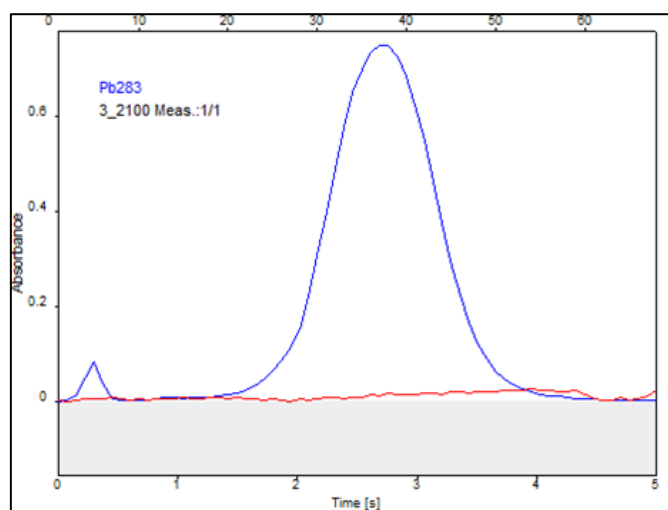
$$t_{\text{atom}} = 2300\text{ }^{\circ}\text{C}, t_{\text{pyr}} = 900\text{ }^{\circ}\text{C}$$

5.3.2 Optimalizace atomizace

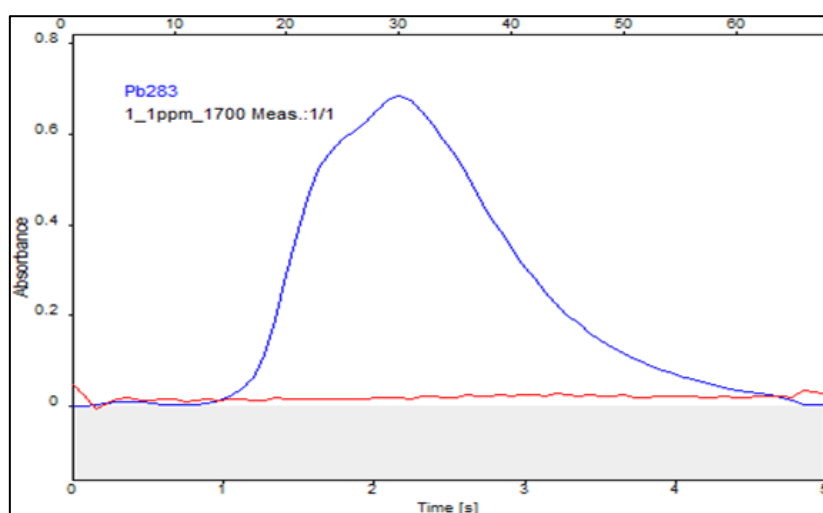
Optimalizace atomizace standardu 5ul 1 ppm olovnatých iontů

Optimalizace atomizace byla provedena v rozmezí teplot od 1700 °C do 2500 °C. Teplota pyrolýzy byla nastavena na 900 °C.

Při nižších teplotách atomizace nebyla odezva dostačující. Při teplotě atomizace 1900°C (obr. 5.8) byla odezva absorbance nejvyšší, avšak s ohledem na nesymetrický tvar (obr.5.6), a reprodukovatelnost výsledku, byla optimální teplota atomizace zvolena při 2100 °C. (obr. 5.5.)



Obr.5.5- Absorpční signál 5 μ l olovnatých iontů
 $t_{\text{atom}} = 2100\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t_{\text{pyr}} = 900\text{ }^{\circ}\text{C}$, $c_{\text{pb}^{2+}} = 1\text{ ppm}$

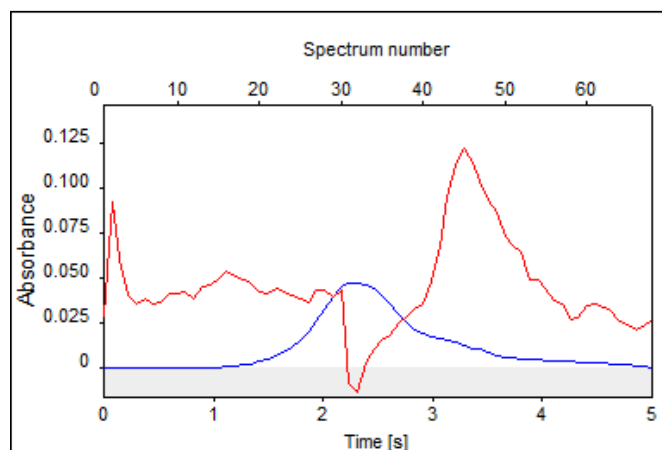


Obr.5.6- Absorpční signál 5 μ l olovnatých iontů
 $t_{\text{atom}} = 1900\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t_{\text{pyr}} = 900\text{ }^{\circ}\text{C}$, $c_{\text{pb}^{2+}} = 1\text{ ppm}$

Optimalizace atomizace vzorku dětského laku na nehty

Optimalizace byla provedena vzorkem dětského laku na nehty o růžové barvě. Rozsah atomizačních teplot byl od 1700 $^{\circ}\text{C}$ do 2500 $^{\circ}\text{C}$.

Teplota pyrolýzy při optimalizaci byla nastavena na 900 °C. Optimální teplota atomizace byla zvolena při 2100 °C, jelikož výsledky byly reprodukovatelné a tvar absorpčního signálu byl nejlépe čitelný (obr.5.7).

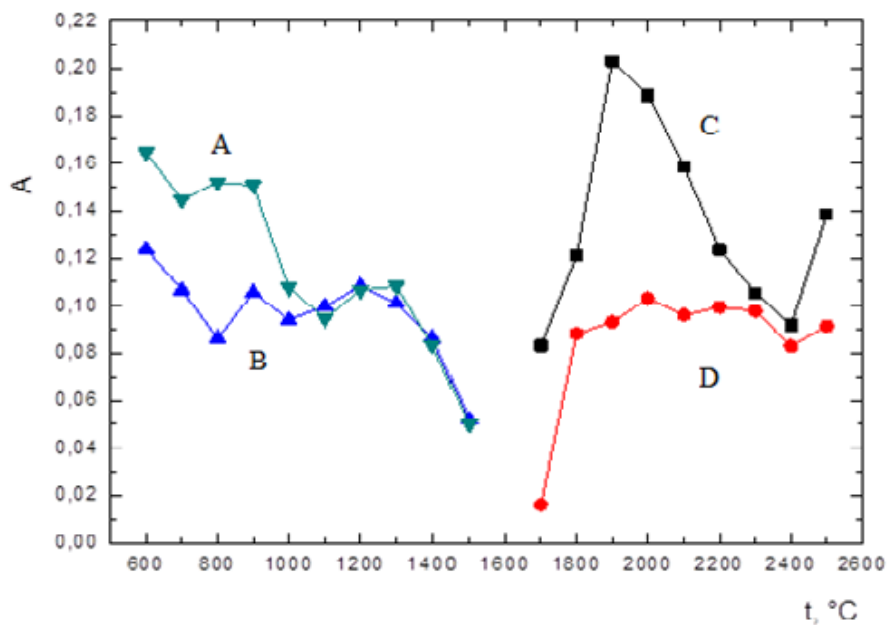


Obr.5.7 - Absorpční signál vzorku růžového dětského laku na nehty

$$t_{\text{atom}} = 2100 \text{ }^{\circ}\text{C}, t_{\text{pyr}} = 900 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

Na obrázku 5.8 lze vidět vývoj při optimalizaci jednotlivých parametrů. Pro přesnost měření by bylo vhodné zoptimalizovat podmínky pyrolýzy i atomizace pro každý vzorek zvlášť díky rozlišnému složení vzorku. Dle obrázku 5.8 lze vidět, že standard olovnatých iontů o koncentraci 1 ppm nebyl příliš stabilní, avšak vzorek růžového laku byl stabilní v rozmezí teplot od 2000 °C do 2400 °C.

Při pyrolýze byl standard olovnatých iontů nejstabilnější od 700 °C do 900 °C a vzorek dětského laku od 900 °C - 1300°C.



Obr. 5.8- Optimalizace atomizace a pyrolýzy standardu a vzorku
A-optimalizace pyrolýzy 5 μ l 1 ppm olovnatých iontů, B – optimalizace pyrolýzy vzorku dětského růžového laku na nehty, C- Optimalizace atomizace 5 μ l 1 ppm olovnatých iontů, D- optimalizace atomizace vzorku dětského růžového laku na nehty

Tab.5.2 : Metoda pro stanovení olova ve vzorcích po optimalizaci na contrAA 600

		Temp	Ramp	Hold	Time	Gas	
		[°C]	[°C /s]	[s]	[s]	Purge	Add.
1	Sušení	80	6	20	28,3	Max	Stop
2	Sušení	90	3	20	23,3	Max	Stop
3	Sušení	110	5	10	14,0	Max	Stop
4	Pyrolýza	350	50	5	9,8	Max	Stop
5	Pyrolýza	900	300	10	11,8	Max	Stop
6	Přizpůsobení plynu	1000	0	5	5,0	Stop	Stop
7	Atomizace	2100	1500	4	4,8	Stop	Stop
8	Čištění	2450	500	4	4,7	Max	Stop

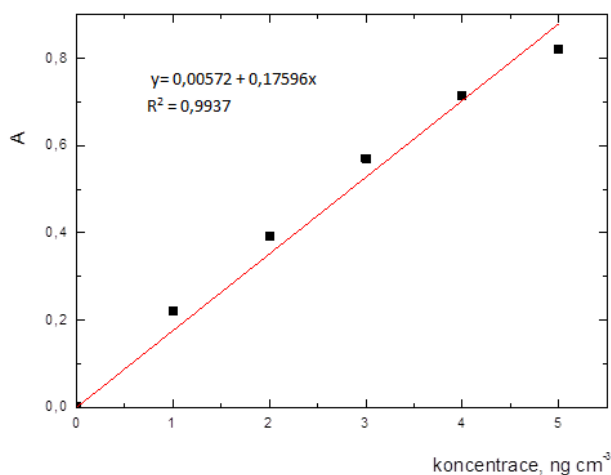
5.4 Kalibrační závislost

Kalibrační závislost byla měřena z 6 bodů včetně blanku. Kalibrace byla nejprve provedena na ContrAA 600 na ústavu analytické chemie akademie věd v Praze, avšak kvůli poruše přístroje byla opakována na ContrAA700 na ústavu analytické chemie Univerzity Karlovy. Při opakování kalibrace na contrAA 700 byl delší čas prvního stupně sušení o 1,2 s, kdy změna není příliš významná, a je předpoklad, že tato změna nemá vliv na metodu, která je popsána v tabulce 5.2. Použité přístroje užívají stejný modul s dávkováním pevných vzorků s autosamplerem a stejný způsob vyhřívání kyvety. Z tohoto důvodu nebyla optimalizace atomizace a pyrolýzy opakována na contrAA700. Je pravděpodobné, že metoda je využitelná na obou typech přístroje.

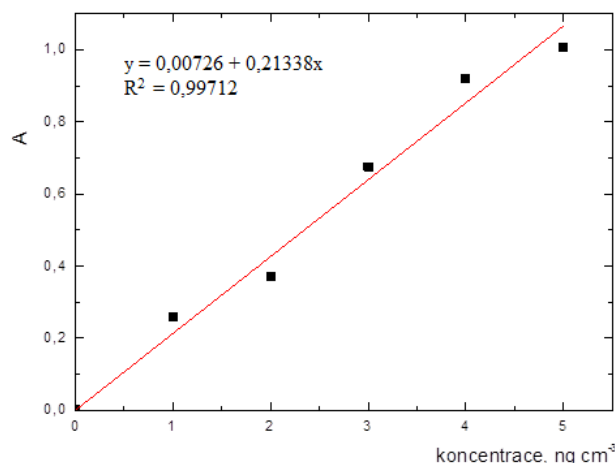
Tab.5.3: Hodnoty absorbancí kalibrační závislosti olova měřené na dvou různých přístrojích.

	0.	1.	2.	3.	4.	5.
contrAA 600	0,004	0,259	0,371	0,675	0,919	1,006
contrAA 700	0,003	0,221	0,392	0,571	0,714	0,821

5 μ l standardu bylo dávkováno na lodičku, a poté byly přidány modifikátory o objemech 5 μ l 0,1% dusičnanu paladnatého a 3 μ l 0,1% hořečnatých iontů.



Obr.5.9- Kalibrační závislost olovnatých iontů
měřena na contrAA 700



Obr.5.10- Kalibrační závislost olovnatých iontů
měřena na contrAA 600

V případě contrAA 600 byla kalibrace provedena na šesti grafitových lodičkách, na contrAA 700 byla kalibrace provedena na 1 lodičce. Každý bod kalibrace byl opakován třikrát.

Lodičky mezi měřeními nebyly čištěny, jelikož standard nekoroduje povrch lodiček a za tohoto předpokladu nebylo zaznamenáno výrazné množství zbytkového olova na povrchu. Nebyly zaznamenány výrazně odlišné hodnoty jednotlivých absorpčních signálů jednotlivých kalibračních bodů.

RSD kalibračních bodů pro contrAA600 a 700 jsou v rozsahu od 3,2 – 24,4% (contrAA 600) a 3,5-26,9 % (contrAA 700). Pro SS-AAS je relativní standardní odchylka v rozsahu 20% akceptována kvůli malému množství vzorku a nehomgenitě.
[15]

V případě contrAA700 je hodnota spolehlivosti vyšší (0,9886) oproti contrAA 600 (0,9821). Pravděpodobně použití jedné lodičky pro kalibrační křivku je vhodnější a přesnější.

5.5 Analýza vybraných vzorků

Po optimalizaci podmínek atomizace a pyrolýzy byly provedeny analýzy šesti různě barevných vzorků dětského laku na nehty. Analýza každého vzorku byla provedena třikrát. V tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty analýz vypočtené podle kapitoly 4.5.

Tab.5.4: Výsledné koncentrace, směrodatné a relativně směrodatné odchylky jednotlivých vzorků

vzorek [barva]	laku c [ppm]	SD	RSD [%]
Transparentní	0,04 *; 0,01**	0,01* ; 0,06**	16,3* ;57,7**
Růžový*	0,37	0,01	3,80
Červený*	0,63	0,04	6,00
Černý**	0,32	0,05	14,4
Modrý**	1,81	0,28	15,70
Oranžový**	2,47	0,13	5,10

*contrAA600, ** contrAA700

Dle výsledků popsaných v tabulce 5.4 je nejnižší koncentrace olova vyskytující se v transparentním laku na nehty 0,01 ppm, což je v porovnání se studií v Nigerii [18], kdy nejnižší koncentrace byla 0,03 ppm takřka srovnatelné oproti studii [16] , ve které byla stanovena nejnižší koncentrace na 0,204 ppm. V případě výsledku získaného pomocí contrAA 700 je RSD 57%, což je značně významné. Zákonná hodnota koncentrace Pb a rozdíl ve výsledcích průhledného lesku mezi dvěma použitými contrAA je indikací k opakování analýzy pro tento vzorek na nejcitlivější vlnové délce pro olovo při 217.0010 nm.

Nejvyšší koncentrace olova se vyskytovala v dětském oranžovém laku na nehty, která dosahovala až 2,47 ppm, což je stále pod povoleným množstvím prvku v hračce, ale v kosmetice není povoleno dle směrnic Evropské unie a České republiky. V dospělých lacích na nehty bylo podle [16] a [18] nejvyšší koncentrace olova ve vzorku třikrát vyšší oproti dětskému vzorku.

Zatím nikdo nestudoval koncentrace olova vyskytujícího se v dětských ladicích na nehty, a tudíž výsledky mohou být srovnány pouze se vzorky dospělých lidí na nehty.

5.6 Mez detekce, Mez stanovitelnosti

Tab.5.5: LOD a LOQ vypočtené pro contrAA 600, contrAA 700

	LOD [ng]	LOQ [ng]
contrAA 600	0,4090	1,360
contrAA 700	0,0526	0,175

Podle tabulky 5.5 je zřejmé, že stanovení olova ve vzorcích bylo přesnější na contrAA700, jelikož mez detekce je výrazně nižší. Zvýšená mez detekce u contrAA 600 může být způsobena kvůli dávkování na šest grafitových lodiček oproti contrAA 700 , kdy byl dávkován blank pokaždé na stejnou lodičku.

6 Závěr

Jedním z cílů této bakalářské práce bylo najít optimální podmínky pro rychlou detekci stopových množství vybraných prvků v lacích na nehty. Pro zjištění přítomnosti olova ve vzorku byla využita metoda doporučená tzv. cook book, která je součástí softwaru pro contrAA 600 i 700, díky pozitivní odezvě byla potvrzena přítomnost olova ve vzorcích.

Byla provedena optimalizace pyrolýzy a atomizace pro standard a vzorek. Vyvinutá metoda vyhřívání kyvety byla využita pro stanovení kalibrační křivky a kvantifikace olova v lacích na nehty. Obsah olova v lacích se pohyboval v intervalu od 0,01 do 2,47 ppm.

Posledním z cílů této práce byla problematika s korozí lodiček a výskyt zbytkového množství olova na povrchu. Z tohoto důvodu byla vyvinuta metoda na čištění a záchranu jejich povrchu. Metoda korozi lodiček nezastavila, ale snížila jejich korozi a umožnila rychlejší a lepší vyčištění lodičky od zbytku prvků.

Všechny cíle této práce byly splněny, metoda umožňuje rychlou detekci a následnou kvantifikaci olova v lacích na nehty. Lodičky byly používány vícekrát, a z toho důvodu bylo nutné lodičky čistit, což prodloužilo proces stanovení. Jedním z řešení problému může být využití jedné lodičky na každý vzorek, což je finančně velmi náročné (2500 Kč / kus). Dalším řešením problému mohou být další experimenty pro záchranu povrchu lodiček a zvýšení jejich životnosti.

7 Použitá literatura

- [1] Chaudhri, S.K.; Jain, N.K.: History of cosmetic. *Asian Journal of Pharmaceutics* **3.3** , 164-167 (2009)
- [2] (ES) č. 1223/2009 *NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích*
- [3] Buxbaum, G. : Industrial inorganic pigments. 2 th ed. Germany, Wiley-Vch 1998.
- [4] Romanowski, P.: *Ingredients a Makeup Chemist you should know* .Dostupné z URL:<<http://chemistscorner.com/ingredients-a-makeup-chemist-should-know/>> [cit. 22.7.2017]
- [5] Koel colours private limited: *Organic pigments vs Inorganic pigments for cosmetic makeup*. Dostupné z URL: <<https://www.koelcolours.com/blog/cosmetics/organic-pigments-vs-inorganic-pigments-cosmetic-makeup/>> [cit. 22.7.2017]
- [6] Martinetto,P; Anne, M.; Dooryh, E.; Drakopoulos, M.; Dubus, M.; Salomon, J.; Simionovici, A.; Walter, Ph. : Synchotron X-ray micro-beam studies of ancient Egyptian make-up. *7th International Conference on Nuclear Microprobe Technology and Applications, Bordeaux* **181**, 744-748 (2001)
- [7] Corrosion doctors: *Lead in history*. Dostupné z URL: <<http://corrosion-doctors.org/Elements-Toxic/Lead-history.htm>> [cit. 24.7.2017]
- [8] Greenwood, N.N.; Earnshaw, A.: Chemistry of the elements 1. Oxford, Butterworth-Heinemann 1997.

- [9] Agency for Toxic Substances and Disease Registry Case Studies in Environmental Medicine: *Lead*. Dostupné z URL:
<https://www.atsdr.cdc.gov/csem/lead/docs/lead.pdf> [cit.24.7.2017]

- [10] World Health Organization : *Lead poisoning*. Dostupné z URL:
<http://www.who.int/ceh/publications/leadguidance.pdf> [cit. 24.7.2017]

- [11] The campaign for safe cosmetics : A posion kiss : The problém of lead in lipstick. Dostupné z URL:
 < <http://www.womensvoices.org/wp-content/uploads/2010/06/PoisonKiss1.pdf>
 > [cit. 25.7.2017]

- [12] Alnuwaiser, M.A. : . Determination of Some Trace Elements in the Lipsticks and their Potential Health Hazards in the Kingdom of Saudi Arabia. *Global Advanced Research Journal of Engineering, Technology and Innovation* **5**, 23-33 (2016)

- [13] Liu, S.; Hammond, S.K.; Rojas-Cheatham, A.: Concentrations and Potential Health Risks of Metals in Lip Products. *Environmental Health Perspectives* **126** (6), 1-6 (2013)

- [14] Orisakwe, O.E.; Otaraku, J.O.: Metal Concentrations in Cosmetics Commonly Used in Nigeria. *The Scientific World Journal* **0**, 1-7, (2013)

- [15] Lemaire, R.; Bianco, D. Del.; Garnier, L.; Beltramo, J. L.: Determination of Lead in Lipstick by Direct Solid Sampling High-ResolutionContinuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry: Comparis on of Two Digestion Methods. . *Analytical Letters* **46**, 2265-2278 (2013)

- [16] Grosser, Z.; Davidowski, L.; Thompson, L. : The determination of metals in cosmetics. *PerkinElmer* **6**, 1-6 (2012)

- [17] Alsaffar, N. M.; Hussein, H.J.: . Determination of heavy metals in some cosmetics available in locally markets. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*. **8**, 09-12 (2014)
- [18] Iwegbue, Ch. M. A. : Safety evaluation of the metals in some brands of nail polish in Nigeria. *JOURNAL FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ UND LEBENSMITTELSICHERHEIT-JOURNAL OF CONSUMER PROTECTION AND FOOD SAFETY* **11**;3, 271-278 (2016)
- [19] Sherrow, V.: *For Appearance' Sake: The Historical Encyclopedia of Good Looks, Beauty, and Grooming* . Greenwood Publishing Group, 2001
- [20] How products are made : *Nail polish*. Dostupné z URL : <<http://www.madehow.com/Volume-1/Nail-Polish.html> > [cit. 28.7.2017]
- [21] Wikipedia : *Nail polish*. Dostupné z URL: < https://en.wikipedia.org/wiki/Nail_polish > [cit. 30.7.2017]
- [22] č.86/2011 Sb: Nařízení vlády o technických požadavcích na hračky.
- [23] Lavilla, I.; Cabaleiro, M.; Costas, M.; Bendicho, C.: Ultrasound-assisted emulsification of cosmetics samples prior to elemental analysis by different atomic spectrometric techniques. *Talanta* **80**:1, 109-116 (2009)
- [24] Rebelo, A.; Pinto, E.; Silva, V. M.; Almeida A.A.: Chemical safety of children's play paints: Focus on selected heavy metals. *Microchemical Journal* **118**, 203-210 (2015)
- [25] Němcová, I.; Čermáková, L.; Rychlovský, P.: *Spektrometrické analytické metody I*. Praha, Karolinum 2004.
- [26] Wikipedia: Inductively coupled plasma mass spectrometry. Dostupné z URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Inductively_coupled_plasma_mass_spectrometry > [cit. 31.7.1993]

- [27] Pharmaxchange.info: *Ultraviolet- Visible (UV-Vis) Spectroscopy-Limitations and Deviations of Beer- Lambert Law*. Dostupné z URL:
<http://pharmaxchange.info/press/2012/05/ultraviolet-visible-uv-vis-spectroscopy-%E2%80%93-limitations-and-deviations-of-beer-lambert-law/>
 [cit. 31.7.2017]
- [28] Welz, B.; Becher-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.: *High-resolution Continuum Source AAS*. Litges & Dopf Buchbinderei GmbH, Heppenheim 2005
- [29] Komárek, J.: *Atomová absorpční spektrometrie*. Brno, Masarykova Univerzita v Brně, 2000.
- [30] Univerzita Karlova: Pokročilé praktikum z analytické chemie. Dostupné z URL:
<https://web.natur.cuni.cz/analchem/pprakt/etaaas.pdf> > [cit. 1.8.2017]
- [31] Analytical Methods for graphite Tube Atomizers: *Users'sguide*. Agilent Technologies, Inc., Australia 2012.
- [32] Kurfürst, U.: *Solid Sample Analysis*. Berlin, Springer 1998.
- [33] Dočekal, B.: Přímá analýza pevných vzorků atomovou absorpční spektrometrií s elektrotermickou atomizací. In: *Inovace v atomové absorpční a fluorescenční spektroskopii*. Dědina, J. Praha, VŠCHT (2007)
- [34] Dočekal, B.; Vojtková, B.:] Determination of trace impurities in titanium dioxide by direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 62, 304-308 (2007)
- [35] Castro, M.A.; Aller, A. J.; Faulds, K.; Littlejohn, D.: Study of the effect of nitric acid and metal-based chemical modifiers on graphite platform surfaces by Raman spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 24, 1044-1050 (2009)

- [36] Leao, D. J.; Mario M.S., Junior; Brandao, G. C.; Ferreira, S. L. C. : Simultaneous determination of cadmium, iron and tin in canned foods using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. . *Talanta* 153, 45-50 (2016)
- [37] Caldas, D. J.; Raposo Jr., J. L.; Gomes Neto, J. A.; Barbora Jr., F. : Effect of modifiers for As, Cu and Pb determinations in sugar-cane spirits by GF AAS. *FOOD CHEMISTRY* **113**, 1266-1271 (2009)